

激光诱导荧光探测植物生长周期中叶绿素变化规律的研究

陶 莎 薛 清 王素芹

(江苏海洋大学理学院, 江苏 连云港 222005)

摘要: 叶绿素在植物的光合作用中起着至关重要的作用, 对植物生长周期中叶绿素含量变化的研究有利于监测植物的生长状况, 对提高农作物产量有十分重要的意义。本文利用激光诱导荧光技术针对不同植物不同生长周期进行叶绿素分布的荧光光谱分析和研究, 实现对植物叶绿素变化规律的分析检测。研究发现荧光参数 F_{732}/F_{685} 与叶绿素的含量呈现良好的线性关系 $Y=2.42277X+0.20764$, R^2 因子为 0.96319; 在植物的生长周期中, 其体内叶绿素的含量呈现增长趋势, 在成熟期体内的叶绿素含量最高, 营养价值最大。激光诱导叶绿素荧光具有快速高效、分析灵敏度高的优点, 具有良好的应用前景。

关键词: 激光诱导荧光技术; 叶绿素; 荧光光谱

激光诱导荧光 (Laser Induced Fluorescence, LIF) 技术是利用植物中的荧光物质受到激光激发后的荧光效应来反演其浓度的生物探测技术, 具有快速高效、分析灵敏度高和不需对样品进行预处理等的优点。利用激光光源直接照射植物叶片, 可实现植物叶片叶绿素荧光的无损检测。绿色植物的生长发育离不开植物的光合作用, 植物的光合作用包括光物理、光化学和生物化学等一系列复杂的过程, 植叶绿素是一类与植物光合作用直接相关的重要色素, 直接参与植物的各项生命活动以及光能的吸收、转换, 与此同时, 植物中叶绿素的含量还与作物的产量呈现良好的正相关, 因此, 对植物生长周期中叶绿素含量变化的研究有利于监测植物的生长状况, 对提高农作物产量也十分有意义。本文采用全光纤激光诱导荧光检测系统, 可以快速、精确地对植物生长周期中的叶绿素含量变化规律进行研究。

一、全光纤激光诱导荧光探测叶绿素荧光系统

本文设计激光诱导荧光叶绿素探测系统装置如图 1 所示;

激光诱导荧光叶绿素探测系统采用正交垂直式光学结构, 减小了瑞利散射和拉曼散射所引起的背景噪声。该系统设计中, 光源采用长春新产业生产的 405 nm 半导体激光器 (MDL-III-405), 输出功率 0—500 mw 可调, 通过一个准直系统耦合进光纤中, 入射光经四向支架 (CUV-DHC) 照射至中心的样品池中, 通过斯托克斯位移发射荧光, 四向支架的其中两个方向分别装有两个反射镜, 入射激光经其中一个反射镜再次经过样品池与样品充分接触, 提高入射光荧光效率; 散射荧光经另一个反射镜反射进入荧光采

集系统以提高荧光的采集效率。光纤滤波器采用一个长通滤波片 ($\lambda > 450\text{nm}$) 以消减进入光谱仪的激光散射, 提高检测器的信噪比。光谱仪采用 Avantes 公司生产的便携式光纤光栅光谱仪 (AvaSpec-ULS2048L), 探测波段 360~1000 nm。光谱仪采用 USB 3.0 可以非常方便地连接电脑, 实时记录荧光光谱。

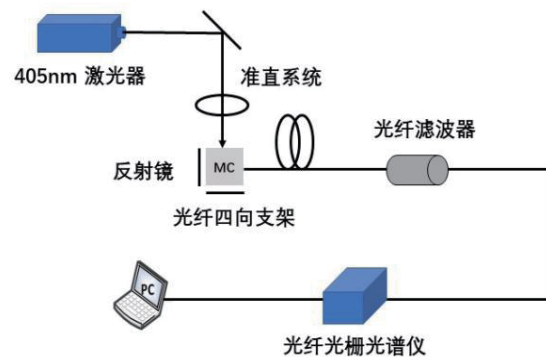


图1 全光纤激光诱导荧光探测叶绿素荧光系统机构示意图

二、激光诱导叶绿素荧光参数的测定

本文选取成熟的生菜叶作为研究对象, 经过研磨、稀释、滴定, 选取 7 组样品 (标号为 a, b, c, d, e, f, g), 浓度依次为: 0.025 mg/L、0.022 mg/L、0.020 mg/L、0.018 mg/L、0.016 mg/L、0.014 mg/L、0.012 mg/L。将测试样品放入样品池经过激光诱导荧光叶绿素探测系统进行检测, 获得的叶绿素荧光特征光谱如图 2 所示:

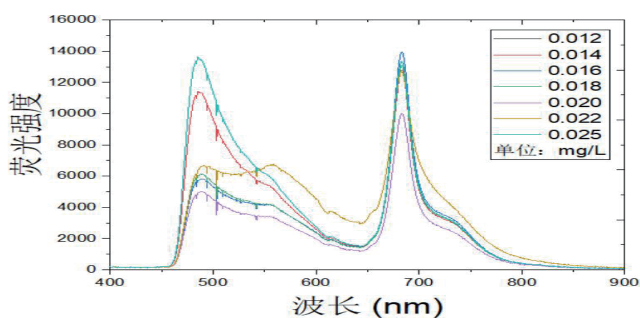


图2: 生菜叶片样品不同浓度的荧光光谱曲线

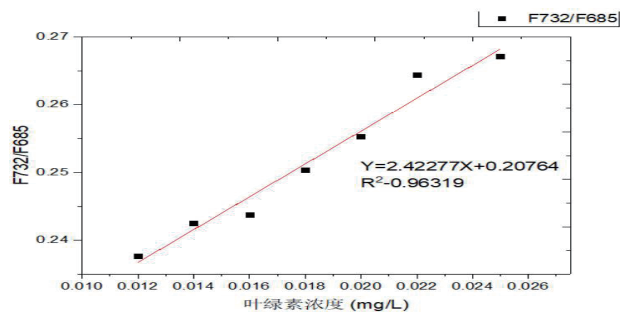


图3: 生菜叶片样品不同浓度的荧光光谱曲线

从上图可知,叶绿素在可见光区域有两个明显的发射峰值,分别是450nm左右的蓝紫光区域和680nm左右的红光区域。实验标定荧光参量与叶绿素浓度之间的关系如图3所示。由图可见,荧光参数 F_{732}/F_{685} 与叶绿素的含量呈现良好的线性关系,线性关系为 $Y=2.42277X+0.20764$,拟合度 R^2 因子为0.96319。因此,荧光参数 F_{732}/F_{685} 可以准确地反映样品中的叶绿素含量,后续实验可以采用荧光参数 F_{732}/F_{685} 来研究样品中叶绿素含量的变化。

三、植物生长周期中叶绿素变化规律的研究

本文采用激光诱导荧光方法对不同植物不同生长周期进行叶绿素荧光光谱检测,探究其生长周期中叶绿素的变化规律。本实验分别选取生菜、鸡毛菜、四季小青菜作为研究对象,以发芽期(种植后10天)、幼苗期(种植后15天)、生长期(种植后20天)、

成熟期(种植后30天左右)为研究周期,以荧光参数 F_{732}/F_{685} 作为比对标准,探究其在相同的养殖方法下同种植物的不同生长周期叶绿素含量的变化。

图4为生菜在发芽期、幼苗期、生长期、成熟期的荧光光谱曲线,图5、图6、图7为生菜、鸡毛菜、四季小青菜在不同生长时期的荧光参数变化趋势图。可以发现,在植物的生长过程中,其体内叶绿素的含量呈现增长趋势,在幼苗期和生长期(即种植后20天左右),体内叶绿素含量变化不大,在成熟时,体内的叶绿素含量最高,营养价值最高。同时,这三种绿色蔬菜在相同种植条件、实验条件下,叶片内的叶绿素含量由高到低排列为:四季小青菜>生菜>鸡毛菜。

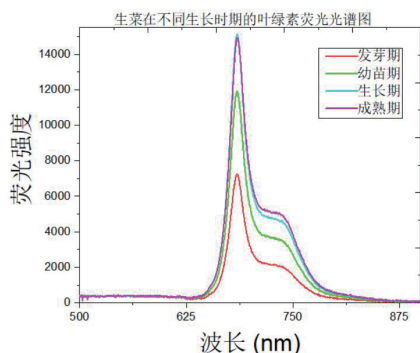


图4: 生菜在不同生长时期体内叶绿素荧光光谱图

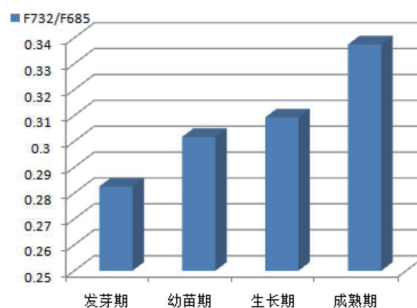


图5: 生菜在不同生长时期的荧光参数变化趋势

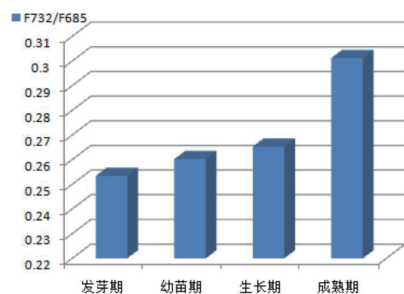


图6: 鸡毛菜在不同生长时期的荧光参数变化趋势

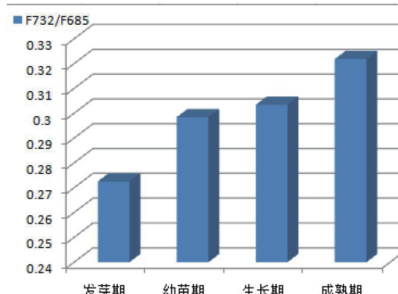


图7: 四季小青菜在不同生长时期的荧光参数变化趋势

四、结语

本文利用激光诱导荧光技术针对不同植物不同生长周期进行叶绿素分布的荧光光谱分析和研究。研究发现植物荧光光谱中的荧光参数 F_{732}/F_{685} 与叶片中的叶绿素含量呈现良好的线性关系 $Y=2.42277X+0.20764$, R^2 因子为0.96319。实验中可通过探测荧光光谱中荧光参数 F_{732}/F_{685} 来准确地反映叶片中的叶绿素含量。根据这种方法,在实验中选用不同植物进行种植,以发芽、生根、发棵、成熟为一生长周期,研究不同生长时期,植物叶片荧光光谱中荧光参数 F_{732}/F_{685} 的变化,从而得到绿色植物在一个生长周期内的叶绿素变化趋势。实验发现:在绿色蔬菜的成长过程中,其体内叶绿素的含量呈现增长趋势,在幼苗期和生长期(即种植后20天左

右),体内叶绿素含量变化不大,在成熟时,体内的叶绿素含量最高,营养价值最大。

参考文献:

- [1] 杨昊谕, 于海业, 张蕾, 等. 基于激光诱导荧光光谱分析的黄瓜叶片叶绿素含量检测[J]. 农业机械学报, 2019(10): 4.
- [2] 许成才, 闫卫平, 李伟. 光纤嵌入式激光诱导荧光检测系统研究[J]. 仪器仪表学报, 2006(z2): 2.

基金项目: 2020年江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJB140011)。

作者简介: 陶莎(1988-), 女, 江苏连云港人, 博士, 讲师, 研究方向: 光纤激光器, 海洋光学遥感。